

· 数据挖掘 ·

## 基于数据挖掘的早发性卵巢功能不全动物模型分析

王艳辉, 唐丽, 雷磊\*

(湖南中医药大学 中西医结合学院, 长沙 410208)

**[摘要]** **目的:**研究早发性卵巢功能不全动物模型的造模特点,为早发性卵巢功能不全动物模型制备的规范化提供参考,为该病发病机制及诊疗研究提供更好的研究基础。**方法:**通过检索中国知网、万方、维普、中国生物医学文献及PubMed数据库获取近十年早发性卵巢功能不全动物实验文献,归纳实验动物种类、造模方式、给药剂量、给药方案、成模标准及检测指标,应用Excel软件进行频数分析,应用SPSS Modeler 18.0进行关联规则分析并运用Cytoscape 3.6.1对结果进行可视化升级。**结果:**共纳入文献281篇,建立早发性卵巢功能不全动物模型多选用SD大鼠或BALB/c小鼠,造模方式多选用医源性诱导,造模药物以环磷酰胺为主,成模标准多选用动情周期紊乱,检测指标多选用卵巢组织形态学变化、雌二醇、卵泡刺激素及动情周期以从多方面综合评价模型。**结论:**早发性卵巢功能不全动物实验多选用SD大鼠,以环磷酰胺首次腹腔注射给药 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,第2天起以 $8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 维持14 d诱导造模,具有简便易行、成模率高且符合疾病发生过程等优点,可为该病基础动物实验研究提供参考。

**[关键词]** 早发性卵巢功能不全; 动物模型; 数据挖掘; 发病机制; 基础研究

**[中图分类号]** R285;R289;R287;R22;R2-031;R33;R24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)09-0225-09

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20230317

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail//11.3495.R.20230215.1347.003.html>

**[网络出版日期]** 2023-02-16 10:21:27

### Animal Model of Premature Ovarian Insufficiency Based on Data Mining

WANG Yanhui, TANG Li, LEI Lei\*

(College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the modeling characteristics of the animal model of premature ovarian insufficiency and provide references for the standardization of the animal model of premature ovarian insufficiency, thus offering a better research basis to the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the disease. **Method:** The animal experimental literature of premature ovarian insufficiency in the past decade was obtained by searching China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wanfang, VIP Chinese Technology Periodical Database, China Biology Medicine (CBM), and PubMed. The types of experimental animals, modeling methods, dosage, administration scheme, modeling standards, and detection indicators were summarized. The frequency analysis was performed with Excel, the association rule analysis was performed with SPSS Modeler 18.0, and the results were visually upgraded with Cytoscape 3.6.1. **Result:** A total of 281 articles were included, and most animal experiments on premature ovarian insufficiency were performed on SD rats or

**[收稿日期]** 2022-10-31

**[基金项目]** 湖南省自然科学基金项目(2021JJ30493);湖南省中医药科研计划重点项目(2021007);湖南中医药大学校级科研基金项目(2020XJJ001)

**[第一作者]** 王艳辉,在读博士,从事中医药防治妇科疾病研究,E-mail:2300652085@qq.com

**[通信作者]** \*雷磊,教授,博士生导师,从事中医药防治妇科疾病研究,E-mail:leilei1398@sina.com

BALB/c mice. Most modeling methods were iatrogenic induction, and the main modeling drug was cyclophosphamide. Erestrous cycle disorder was selected as the modeling standard. Ovarian histomorphology, estradiol, follicle stimulating hormone, and estrous cycle were selected as the detection indicators to comprehensively evaluate the model from multiple aspects. **Conclusion:** SD rats are mostly used to induce modeling in animal experiments on premature ovarian insufficiency through first intraperitoneal injection of cyclophosphamide  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and  $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  from the next day for 14 d, which has the advantages of easy operation, high modeling rate, and consistency with the disease pathogenesis. This paper can provide references for basic animal experimental research of premature ovarian insufficiency.

**[Keywords]** premature ovarian insufficiency; animal model; data mining; pathogenesis; fundamental research

早发性卵巢功能不全(POI)是指女性在40岁之前发生卵巢功能衰退,主要表现为月经稀发或停经4个月,且间隔4周以上连续2次卵泡刺激素(FSH) $>25 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ [1],其发病率与年龄相关,在40岁以下女性中约为1%,而在30岁以下女性中约为0.1%[2],近年来POI发病率呈升高趋势[3],全球范围内发病率达3.7%[4]。POI属于中医“月经过少”“月经后期”“闭经”范畴。肾藏精,主生殖,若肾精亏虚,血海不能按时满溢则会出现月经过少或月经后期甚至闭经,故中医认为肾精亏虚为POI发病之根本,并将其分为肾精亏虚、肝肾阴虚、肾阳虚、心肾不交等证型[5]。其西医发病机制尚不完全明确,主要与遗传、免疫、代谢、医源、环境及社会心理因素等相关[6]。POI常常导致女性月经改变且生育力减低,甚至不孕,严重影响女性健康及家庭和谐,如何防治本类疾病已成为妇科领域研究热点,而动物模型的建立是基础实验研究中至关重要的环节。

近年来国内外学者对于POI动物模型进行了大量研究,创造了多种可行的造模方式,但目前尚无一种公认的理想模型,一些综述对于各种造模方式曾进行归纳总结[7-8],但仅着重描述造模方法,而对于给药剂量及方案等无具体描述,本文采用数据挖掘的方式,从动物种类、造模方式、给药剂量及方案、成模标准、检测指标等多方面进行分析总结,探索POI动物模型的研究现状及不足,为其动物模型的规范应用提供参考依据。

## 1 资料与方法

**1.1 数据来源** 以“早发性卵巢功能不全 or 卵巢早衰 or 卵巢功能减退 or 卵巢功能低下 or 卵巢储备功能减退 or 卵巢储备功能低下 or 卵巢储备功能不良 or 卵巢低反应”+“动物模型”为主题词分别检索中国知网(CNKI)、万方数据知识服务平台(Wanfang Data)、维普中文期刊服务平台(VIP)、中国生物医

学文献数据库(CBM);PubMed中以“premature ovarian insufficiency OR premature ovarian failure OR diminished ovarian reserve OR poor ovarian response”AND“animal model”为主题词进行检索。检索时间均限于2010年1月1日至2022年8月31日。

**1.2 文献筛选标准** 纳入标准:使用动物模型进行POI研究的实验性研究文献;排除标准:①综述类、理论研究类文献;②未明确记录动物种类及造模方式的文献;③未明确说明造模成功的文献;④重复发表的文献仅取发表时间最早的一篇;⑤出现数据错误或数据脱漏的文献。

**1.3 统计学方法** 提取纳入文献中实验动物种类、造模方式、成模标准、检测指标等数据,将实验动物名称等参照《实验动物与动物实验技术》[9]进行规范,建立POI动物模型数据库,使用Excel软件进行频数分析,使用SPSS Modeler 18.0进行关联规则分析并运用Cytoscape 3.6.1对结果进行可视化升级。

## 2 结果

**2.1 文献纳入结果** 根据上述检索策略初步检索到中国知网211篇、万方374篇、维普431篇、中国生物医学文献99篇、PubMed 232篇,共1 347篇,剔除重复文献460篇,余887篇阅读题目与摘要后剔除综述、理论研究类及无关文献共389篇,余498篇阅读全文剔除不符合纳入标准的文献,最终纳入文献281篇。

**2.2 实验动物种类** 纳入文献中实验动物种类共11种,其中使用频数排名前两位的为SD大鼠(135次,48.04%)与BALB/c小鼠(51次,18.15%)。具体实验动物种类分布情况见表1。且实验动物种类的选择与造模方式密切相关,见表2和表3。SD大鼠多用于建立环磷酰胺(CTX)及雷公藤制剂诱导的医源性模型,而BALB/c小鼠中84%用于建立

透明带3多肽诱导的免疫性模型。

表1 实验动物种类分布

Table 1 Distribution of experimental animal species

动物种类	频数/次	占比/%
SD大鼠	135	48.04
BALB/c小鼠	51	18.15
C57BL/6小鼠	31	11.03
Wistar大鼠	28	9.96
昆明小鼠	16	5.69
ICR小鼠	13	4.63
B6AF1小鼠	2	0.71
日本大耳兔	2	0.71
豚鼠	1	0.36
基因工程小鼠	1	0.36
Fvb-wt小鼠	1	0.36

表2 SD大鼠造模方式分布

Table 2 Distribution of modeling methods in SD rats

方法	频数/次	占比/%
雷公藤制剂	48	36
CTX	40	30
顺铂	11	8
去氧乙烯基环己烯	11	8
应激刺激	9	7
$\gamma$ 射线	4	3
半乳糖	4	3
CTX+白消安	2	1
氯化可的松	2	1
卵巢抗原	1	1
透明带3多肽	1	1
雷公藤+应激	2	1

表3 BALB/c小鼠造模方式分布

Table 3 Distribution of modeling methods in BALB/c mice

方式	频数/次	占比/%
透明带3多肽	39	76
雷公藤制剂	5	10
CTX	3	6
$\gamma$ 射线	2	4
手术灼烧卵巢	1	2
CTX+白消安	1	2

2.3 造模方式 可将纳入文献中造模方式归纳为医源、免疫、代谢、环境、基因工程、应激刺激、复合造模及病证结合8大类,之后又细分出17种,其中

使用频数排名前3的依次为CTX(72次,25.62%)、雷公藤制剂(63次,22.42%)、透明带3多肽(44次,15.66%),见表4。

2.3.1 CTX造模给药剂量及方案 根据表4可知造模方式中CTX占比最多,且其给药方式均为腹腔注射,但其给药剂量及方案在不同研究之间差异较大,故将其给药剂量及方案进行归纳,发现共有25种,其中频数 $\geq 2$ 次的共12种,见表5,首次给药 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,第2天起以 $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 连续14 d出现次数最多(22次,30.56%),表明在采用CTX造模时此种给药剂量及方案应用最多。

2.3.2 雷公藤制剂造模给药剂量及方案 纳入文献中雷公藤制剂包括雷公藤多苷片及雷公藤多甙片2种,其给药方式绝大部分为灌胃(62次,98.41%),仅1篇文献中给药方式为腹腔注射。给药剂量及方案共出现13种,其中 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,连续灌胃14 d的方案出现最多(33次,52.38%),其次为 $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,连续灌胃14 d(16次,25.40%),见表6。

2.3.3 顺铂造模给药剂量及方案 纳入文献中顺铂造模给药方式均为腹腔注射,给药剂量及方案共9种,其中 $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射,每周1次,共2次的方案出现最多(8次,34.78%),其次为 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 腹腔注射,连续7 d的方案(5次,21.74%),见表7。

2.3.4 CTX+白消安造模给药剂量及方案 通过整理数据库发现CTX+白消安造模给药剂量及方案共4种,其中一次性给药 $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ +白消安 $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 出现次数最多(9次,56.25%),表明此种给药剂量及方案在研究中选用最多,见表8。给药方式方面,CTX均采用腹腔注射,而白消安采用皮下注射(7次,43.75%)及腹腔注射(9次,56.25%)2种给药方式。

2.3.5 去氧乙烯基环己烯造模给药剂量及方案 纳入文献中去氧乙烯基环己烯(VCD)造模给药方式均为腹腔注射,给药剂量及方案共出现5种, $160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,连续15d出现最多(9次,56.25%),表明应用VCD造模的大部分文献选用了此给药剂量及方案。见表9。

## 2.4 成模标准

2.4.1 西医成模标准 纳入文献中多以动情周期紊乱作为西医成模标准,共使用206次,占比73.31%,其次为卵巢组织形态学改变(39次,13.88%)及性激素改变(16次,5.69%),另有16个研究采用了复合成模标准,4个研究采用了动物一般

表4 造模方式频数分布

Table 4 Frequency distribution of modeling mode

造模因素	造模方式	造模原理	造模周期/d	频数/次	占比/%
医源性	CTX	化疗药物及生殖毒性药物主要由于其毒性作用可对卵母细胞和颗粒细胞产生影响,诱导卵巢细胞凋亡、抑制卵泡生长发育、干扰生殖内分泌等损害卵巢功能 <sup>[10-12]</sup>	1~20	72	25.62
	雷公藤制剂		9~70	63	22.42
	顺铂		5~14	23	8.19
	CTX+白消安		1	16	5.69
	γ射线	卵巢对射线十分敏感,真核细胞暴露在射线下会引起氧化损伤,其中原始卵泡受损最明显 <sup>[13]</sup>	1~30	8	2.85
	双氧水灼烧卵巢	直接损伤卵巢结构及功能	1	1	0.36
	超促排卵	连续性超促排卵可诱导细胞凋亡和卵巢损伤 <sup>[14]</sup>	30	1	0.36
免疫性	透明带3多肽	通过透明带3多肽、透明带4多肽及卵巢作为抗原诱导卵巢发生免疫性炎症,使卵巢闭锁卵泡增加,卵巢功能减退 <sup>[15]</sup>	28~42	44	15.66
	卵巢抗原		42	4	1.42
	透明带4多肽		42	1	0.36
代谢性	35%半乳糖	采用半乳糖诱导动物发生半乳糖血症,半乳糖堆积会导致卵巢功能减退 <sup>[16]</sup>	70	7	2.49
	D-半乳糖		42	4	1.42
环境	去氧乙烯基环己烯	诱导始基卵泡凋亡闭锁,选择性破坏始基卵泡和初级卵泡 <sup>[17]</sup>	14~45	16	5.69
应激	应激刺激	反复不良的应激刺激会干扰下丘脑-垂体-卵巢轴正常功能,进而影响性激素分泌及卵巢功能	12~56	14	4.98
基因	基因工程	通过敲除与卵巢功能减退相关的特定基因诱导 <sup>[18]</sup>	-	1	0.36
复合造模	雷公藤制剂+应激	雷公藤制剂通过诱导卵泡细胞凋亡,引起卵泡闭锁 <sup>[11]</sup> ;应激刺激会干扰下丘脑-垂体-卵巢轴正常功能,进而影响性激素分泌及卵巢功能	15~28	4	1.42
病证结合	氢化可的松	属于公认的肾虚证造模药物 <sup>[19]</sup>	11~12	2	0.71

表5 CTX造模给药剂量及方案频数分布 (n≥2)

Table 5 Dosage and scheme frequency distribution of CTX modeling (n≥2)

给药剂量及方案	频数/次	占比/%
首次50 mg·kg <sup>-1</sup> ,第2天起8 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	22	30.56
75 mg·kg <sup>-1</sup> 一次性给药	7	9.72
30 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续5 d	6	8.33
90 mg·kg <sup>-1</sup> 一次性给药	5	6.94
首次50 mg·kg <sup>-1</sup> ,第2天起5 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	4	5.56
70 mg·kg <sup>-1</sup> 一次性给药	3	4.17
首次200 mg·kg <sup>-1</sup> ,第2天起8 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	2	2.78
50 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续2 d	2	2.78
30 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续20 d	2	2.78
50 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续15 d	2	2.78
60 mg·kg <sup>-1</sup> 一次性给药	2	2.78
30 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续7 d	2	2.78

表6 雷公藤制剂造模给药剂量及方案频数分布

Table 6 Dosage and scheme frequency distribution of tripterygium wilfordii

给药剂量及方案	频数/次	占比/%
50 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	33	52.38
75 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	16	25.40
40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续10 d	3	4.76
40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续30 d	2	3.17
60 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续9 d	1	1.59
55 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	1	1.59
50 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续28 d	1	1.59
40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续60 d	1	1.59
40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续20 d	1	1.59
40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14 d	1	1.59
40 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续10 d	1	1.59
75 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续20 d	1	1.59
40 mg·kg <sup>-1</sup> ,每日2次,连续15 d	1	1.59

状态作为成模标准。见表10。

**2.4.2 中医病证结合成模标准** POI中医病证结合动物模型研究较少,多数研究未对模型动物的中医证候进行判断,仅以西医成模标准说明造模成功。王凯等<sup>[21]</sup>通过观察到大鼠出现精神萎靡、嗜睡、怕

冷及活动减少等判断动物模型属于中医肾虚证;曹俊岩<sup>[22]</sup>采用以方测证判断动物模型的中医证候。但上述多为研究者的主观判断,关于POI动物模型的中医证候判断仍缺少客观可行的统一标准。

表7 顺铂造模给药剂量及方案频数分布

Table 7 Dosage and scheme frequency distribution of cisplatin

给药剂量及方案	频数/次	占比/%
6 mg·kg <sup>-1</sup> ,每周1次,共2次	8	34.78
2 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续7d	5	21.74
4 mg·kg <sup>-1</sup> ,每周1次,共2次	4	17.39
5 mg·kg <sup>-1</sup> ,每周1次,共2次	1	4.35
4.5 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续5d	1	4.35
3 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续7d	1	4.35
2.5 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续7d	1	4.35
1.5 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14d	1	4.35
1.5 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续7d	1	4.35

表8 CTX+白消安造模给药剂量及方案频数分布

Table 8 Dosage and scheme frequency distribution of CTX combined with busulfan

给药剂量及方案	频数/次	占比/%
CTX120 mg·kg <sup>-1</sup> +白消安12 mg·kg <sup>-1</sup> ,一次性给药	9	56.25
CTX120 mg·kg <sup>-1</sup> +白消安30 mg·kg <sup>-1</sup> ,一次性给药	5	31.25
CTX120 mg·kg <sup>-1</sup> +白消安25 mg·kg <sup>-1</sup> ,一次性给药	1	6.25
CTX200 mg·kg <sup>-1</sup> +白消安20 mg·kg <sup>-1</sup> ,一次性给药	1	6.25

表9 VCD造模给药剂量及方案频数分布

Table 9 Dosage and scheme frequency distribution of VCD

给药剂量及方案	频数/次	占比/%
160 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续15d	9	56.25
80 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续15d	4	25.00
80 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续14d	1	6.25
80 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续20d	1	6.26
80 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ,连续45d	1	6.25

表10 西医成模标准频数分布

Table 10 Frequency distribution of western medicine modeling standard

西医成模标准	频数/次	占比/%
动情周期紊乱	206	73.31
卵巢组织形态学改变	39	13.88
性激素改变	16	5.69
动情周期紊乱+性激素改变	7	2.49
卵巢组织形态学改变+性激素改变	4	1.42
动情周期紊乱+卵巢组织形态学改变	4	1.42
一般状态改变	4	1.42
动情周期紊乱+卵巢组织形态学改变+性激素改变	1	0.36

## 2.5 检测指标

2.5.1 频数分布 纳入文献中检测指标共包括86种,累积频数1634次。其中排名前3位的分别为卵

巢组织形态学变化(217次,13.28%)、动情周期(210次,12.85%)、雌二醇(201次,12.30%),检测指标总体频数分布见表11,检测指标频数≥10次,分布见表12。

表11 检测指标总体频数分布

Table 11 Overall frequency distribution of detection indicators

检测指标频数/次	检测指标数/种	占比/%
频数≥100	6	6.98
50≤频数<100	2	2.33
20≤频数<50	5	5.81
5≤频数<20	13	15.12
频数<5	60	69.77

表12 检测指标频数分布(n≥10)

Table 12 Frequency distribution of detection indicators (n≥10)

指标	频数/次
卵巢组织形态学变化	217
动情周期	210
雌二醇	201
卵泡刺激素	200
各级卵泡数目	132
黄体生成素	108
抗苗勒管激素	92
卵巢指数	68
动物一般状态	66
卵巢细胞凋亡水平	31
卵巢重量	30
动物体质量	28
抑制素B	25
孕酮	24
子宫指数	15
抗透明带抗体浓度	12
促细胞凋亡基因	12
B细胞淋巴瘤/白血病-2基因	11

2.5.2 关联规则分析 运用SPSS Modeler 18.0对频数≥10次的检测指标进行关联规则分析,设置仅显示高于20的连接,运行可得到检测指标关联网图,之后运用Cytoscape 3.6.1对关联网图进行可视化升级,从图中可知关联较强的指标组合为卵巢组织形态学变化-雌二醇-卵泡刺激素-动情周期。见图1。

## 3 讨论

通过统计分析可以看出,在实验动物种类方面,POI动物模型的建立大多选用鼠作为模型动物,



图1 检测指标关联网络

Fig. 1 Network association diagram of testing indicators

且倾向选择大鼠,可能是由于造模常用化疗药物如CTX等会带来感染、骨髓抑制及出血性膀胱炎等风险<sup>[23]</sup>,若用药剂量及给药时间控制不佳,易在造模过程中增加小鼠的死亡率,并且基因工程小鼠因价格原因较难获得。此外,动物种类的选择与造模方式密切相关,SD大鼠多用于建立CTX及雷公藤制剂诱导的医源性模型,而BALB/c小鼠中84%用于建立透明带3多肽诱导的免疫性模型,RHIM等<sup>[24]</sup>研究发现小鼠与人类的透明带3蛋白同源性达67%,且进一步比较不同种系小鼠建模发现BALB/c小鼠的免疫反应性较好。

造模方式方面,医源性造模方式占比最多,其包含种类也最多。CTX属于化疗药物,其生殖毒性作用的主要靶器官为卵巢<sup>[25]</sup>,可导致卵巢纤维化、闭经、原始卵泡减少<sup>[26]</sup>甚至卵巢早衰<sup>[27]</sup>。有研究表明,与雷公藤制剂及VCD相比,CTX模型组从动情周期、卵巢形态学改变及性激素等方面均表现出更好的成模效果<sup>[28]</sup>,但其用药时间及剂量尚无统一标准;与单一应用CTX相比,CTX联合白消安为一次性造模方法,具有成模时间短、操作简易及成功率高等优势<sup>[29]</sup>,但由于其给药剂量大,一定程度上会增加实验动物的死亡率,对实验人员操作技术要求较高,故实际应用少于CTX造模方式;顺铂同属于化疗药物,模型较稳定,但对于剂量选择亦无统一标准; $\gamma$ 射线造模剂量稳定,可重复性高,但对实验器材要求高,故应用不广泛;手术造模方式操作难度相对较高且增加感染风险,亦较少应用。免疫性造模方式主要包括透明带3多肽与卵巢抗原造模,

二者相比透明带3多肽所建立模型更符合人类卵巢病理学改变<sup>[30]</sup>,但免疫性造模方式耗时较长,成功率不理想<sup>[31]</sup>。代谢性造模方式主要通过半乳糖诱导模型,35%半乳糖造模易于操作,可行性高,但其造模时间较长,D-半乳糖造模同样操作简便,但研究发现动物血清抗苗勒管激素(AMH)及雄激素水平均升高,不符合人类卵巢功能减退的病理特点<sup>[32]</sup>。应激刺激造模的造模条件较难量化,有待进一步研究。氢化可的松主要用于中医肾阳虚证造模,但由于本动物模型的中医证候评价仍无统一标准,故应用不多。基因工程造模目前最常用的方法是将与卵巢功能减退相关的特定基因敲除,但由于对实验技术要求较高且价格昂贵,故尚未成为主流造模方式。

POI动物模型的建立仍处于探索阶段,目前常用的造模方式各有其优劣<sup>[31]</sup>:①免疫性造模与人类表现相似,但造模时间较长,成模率不佳;②代谢性造模主要通过诱导半乳糖血症实现,但半乳糖血症临床发病率低,缺乏临床实用意义;③基因工程造模虽然可以在一定程度上模拟人类的发病机制,但其对操作技术要求较高且成本高昂,难以普遍应用;④应激及环境化学物质诱导造模研究者仍较少,其可重复性及成模率仍待进一步证实;⑤医源性造模操作简便,成模周期较短且较符合临床改变,是应用最普遍的方法。

造模给药方式及方案方面,CTX给药方式均为腹腔注射,多以首次给药 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,第2天起以 $8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 维持14 d的用药方案建立模型。且有研究者采用不同给药剂量及时间进行CTX造模并比较造模效果,结果上述方案成模效果最理想,大鼠出现动情周期紊乱、卵泡闭锁增多等卵巢功能衰退表现,且卵巢组织形态学变化及性激素改变与临床患者最为相似<sup>[33]</sup>;雷公藤制剂造模给药方案多选用 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,连续灌胃14 d;顺铂造模时给药方式均为腹腔注射,用药方案多选用 $6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射,每周1次,共2次;CTX+白消安造模时多选用一次性给药 $\text{CTX}120\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ +白消安 $12\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的用药方案,白消安给药方式包括皮下注射及腹腔注射2种;VCD造模给药方式均为腹腔注射,给药方案多选用 $160\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,连续15 d。

成模标准方面,西医成模标准多选用动情周期紊乱,大多通过阴道脱落细胞涂片来判定动情周期,当出现动情周期紊乱时,视为造模成功。虽然人为判定动情周期存在很大的主观性,但有研究表

明阴道脱落细胞涂片法是与子宫镜检判定动情周期中吻合率较高的方法<sup>[34]</sup>。若条件允许,可选用相对客观的卵巢组织形态学及性激素的检测,可以更理想地反映卵巢功能的变化及造模结果。纳入文献中医病证结合动物模型研究较少,多数研究未对模型动物的中医证候进行判断,仅以西医成模标准说明造模成功。

检测指标方面,关联最强的指标组合为卵巢组织形态学变化-雌二醇-卵泡刺激素-动情周期,同时其也是出现频次前4位的检测指标,卵巢组织形态学变化可以最直观地反映卵巢的变化,研究者多选用此项指标帮助判断所建立模型是否符合临床病理特点。其次为动情周期,其可以体现卵巢分泌性激素的水平变化<sup>[35]</sup>,若性激素分泌异常,则动情周期会出现紊乱,且动情周期的检测非常简便,可行性很高。对于各项性激素的检测而言,雌二醇出现频数最多,有研究发现POI中雌二醇水平的变化早于FSH的变化,提示E<sub>2</sub>水平可作为早期诊断的检测指标<sup>[36]</sup>。此外,检测较多的生化相关指标还包括AMH和抑制素B(INHB),AMH在女性卵巢储备功能的预测中具有重要价值<sup>[37]</sup>,将AMH与窦卵泡数联合起来对卵巢储备功能进行评价更加敏感和高效,且AMH水平不会受到卵泡发育的影响,对于检测时间无限制,在临床应用方面较窦卵泡数更为简便易行<sup>[38]</sup>。INHB主要由卵巢颗粒细胞产生,其主要生理作用是反馈性抑制垂体FSH的分泌,还可以通过自/旁分泌方式来调节雌二醇的分泌<sup>[39]</sup>,作为颗粒细胞的分泌产物,INHB水平能够比FSH更早地反映卵巢储备情况,因为当INHB水平不足以维持FSH在正常范围时,才表现为血液FSH的升高,因此血清INHB水平可作为早期诊断的一项重要指标<sup>[40]</sup>。此外,与辅助生殖相关的研究表明,INHB在卵巢反应性等方面同样具有一定的预测价值<sup>[41]</sup>。

综上所述,POI动物模型的建立多选用SD大鼠,造模方式多选用医源性诱导,造模药物以CTX为主,给药方式均为腹腔注射,给药方案多选用首次给药50 mg·kg<sup>-1</sup>,第2天起以8 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>维持14 d,成模标准多选用动情周期紊乱,检测指标多选用卵巢组织形态学变化、雌二醇、FSH及动情周期以从多方面综合评价模型。

针对目前POI动物模型存在问题提出以下看法:①POI及其相关疾病如卵巢早衰等,其造模方式基本相同,但纳入文献在造模时均未提及如何确定动物模型为其中具体的哪一种,这就导致这几种疾

病的动物模型混淆不清,难以真正模拟疾病在临床的表现,后续研究或可从成模后性激素的水平等方面探究如何对这几种疾病的动物模型进行区分;②大部分文献采用动情周期紊乱作为成模标准,但部分文献要求连续2个动情周期紊乱,而其余文献则为出现动情周期紊乱即示造模成功,对于动情周期紊乱时间及程度的标准需要进一步统一;③部分文献采用卵巢组织形态学变化作为成模标准,但对于卵巢组织形态变化的判断混乱不一,有些文献甚至未对各级卵泡数目进行比较;④在建立中医病证结合模型方面尚存在空缺,纳入文献中仅有两项研究<sup>[21,42]</sup>通过氢化可的松建立肾虚证动物模型,并且仅通过观察单纯西医疾病动物模型的一般状态作为辨证依据,未加入中医证候的造模因素,后续可尝试将肾虚证、脾虚证、血瘀证等造模因素<sup>[43-45]</sup>运用到卵巢功能减退造模中,以期推动中医病证结合模型的建立;⑤关于中医病证结合模型中证候的评价,当前主要通过采集动物模型“四诊”信息,并参考临床辨证的方法对模型动物的证候进行评价<sup>[46]</sup>,或以方测证,基于方药疗效来反证中医证候<sup>[47]</sup>。而随着组学技术在中医药领域的应用,今后或可尝试借助多组学系统性及整体性等优势<sup>[48]</sup>寻找疾病中医证候的特异性靶点以进行证候评价。

本研究整理归纳了常用的POI造模动物种类、造模方式、给药剂量、给药方案、成模标准以及检测指标,对不同造模方式的优势及局限性进行了比较,并提出了一些问题,希望可以为研究者今后建立可行性及可重复性更高且更符合疾病临床病因病理的POI动物模型提供参考,并进一步促进POI动物模型建立的规范化。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 陈子江,田秦杰,乔杰,等. 早发性卵巢功能不全的临床诊疗中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志,2017,52(9):577-581.
- [2] JANKOWSKA K. Premature ovarian failure [J]. Prz Menopauzalny, 2017, 16(2):51-56.
- [3] TORREALDAY S, KODAMAN P, PAL L. Premature ovarian insufficiency-an update on recent advances in understanding and management [J]. F1000Res, 2017, 6:2069.
- [4] GOLEZAR S, RAMEZANI TEHRANI F, KHAZAEI S, et al. The global prevalence of primary ovarian insufficiency and early menopause: A meta-analysis

- [J]. *Climacteric*, 2019, 22(4):403-411.
- [5] 冯晓玲,李力,曲凡,等. 早发性卵巢功能不全中西医结合诊疗指南[J]. *中医杂志*, 2022, 63(12):1193-1198.
- [6] TUCKER E J, GROVER S R, BACHELOT A, et al. Premature ovarian insufficiency: New perspectives on genetic cause and phenotypic spectrum [J]. *Endocr Rev*, 2016, 37(6):609-635.
- [7] 靳琦,尹平,郑慧敏. 早发性卵巢功能不全动物模型研究概述[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(1):305-308.
- [8] 李芳媛. 卵巢早衰动物模型的建立[J]. *中国计划生育学杂志*, 2021, 29(8):1770-1775.
- [9] 窦如海. *实验动物与动物实验技术*[M]. 济南:山东科学技术出版社, 2006.
- [10] 火夏琴,苟元凤,周利军,等. 化疗致卵巢早衰分子机制及药物预防的研究进展[J]. *现代妇产科进展*, 2018, 27(10):796-798.
- [11] 杨一博,徐颖,王璐,等. 基于Notch信号通路探索菟丝子总黄酮配伍雷公藤多苷对生理小鼠卵巢生殖干细胞的作用及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(5):9-15.
- [12] 丁艳,张静,陶然,等. 顺铂治疗导致卵巢早衰的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2018, 38(6):845-848.
- [13] 赵粉琴,安明霞,丁晓南,等. 基于PI3K/Akt/mTOR信号通路探讨左归丸对60Co- $\gamma$ 射线损伤大鼠卵泡凋亡调控作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(18):12-19.
- [14] LIN Z L, NI H M, LIU Y H, et al. Effect of anti-PMSG on distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor in mouse ovary, oviduct and uterus[J]. *Zygote*, 2015, 23(5):695-703.
- [15] CALONGOS G, HASEGAWA A, KOMORI S, et al. Harmful effects of anti-zona pellucida antibodies in folliculogenesis, oogenesis, and fertilization [J]. *J Reprod Immunol*, 2009, 79(2):148-155.
- [16] RUBIO-GOZALBO M E, GUBBELS C S, BAKKER J A, et al. Gonadal function in male and female patients with classic galactosemia [J]. *Hum Reprod Update*, 2010, 16(2):177-188.
- [17] 丁岩,华克勤. 环境因素对卵巢储备功能的影响[J]. *现代妇产科进展*, 2015, 24(8):636-639.
- [18] JAGARLAMUDI K, REDDY P, ADHIKARI D, et al. Genetically modified mouse models for premature ovarian failure (POF)[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2010, 315(1/2):1-10.
- [19] 杜力军,赵玉男. *实验动物与实验动物模型*[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2012:479.
- [20] 李晓红,闫宏,刘绪红,等. 补肾养血方对卵巢早衰小鼠动情周期及卵巢指数的影响[J]. *解剖学研究*, 2014, 36(3):204-208,封3.
- [21] 王凯,刘帅帅,郭起岳,等. 玛咖粉对肾虚证卵巢早衰模型大鼠卵巢的养护作用研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(28):3929-3932.
- [22] 曹俊岩. 雷公藤多苷致大鼠卵泡发育障碍模型的中医证候属性研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2011.
- [23] 邓震亭. 环磷酸胺药理与毒理研究现状[J]. *天津药学*, 2009, 21(4):42-44.
- [24] RHIM S H, MILLAR S E, ROBEY F, et al. Autoimmune disease of the ovary induced by a ZP3 peptide from the mouse zona pellucida [J]. *J Clin Invest*, 1992, 89(1):28-35.
- [25] MATSUDA F, INOUE N, MANABE N, et al. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: Regulation by survival and death of granulosa cells[J]. *J Reprod Dev*, 2012, 58(1):44-50.
- [26] GHOBADI E, MOLOUDIZARGARI M, ASGHARI M H, et al. The mechanisms of cyclophosphamide-induced testicular toxicity and the protective agents [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2017, 13(5):525-536.
- [27] KILIC S, PINARLI F, OZOGUL C, et al. Protection from cyclophosphamide-induced ovarian damage with bone marrow-derived mesenchymal stem cells during puberty [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2014, 30(2):135-140.
- [28] 王洋,张斐,许洁夏,等. 三种卵巢早衰大鼠造模方法比较研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2022, 42(10):1225-1230.
- [29] 刘慧莹,任春娥,姜爱芳. 两种造模方法导致大鼠卵巢早衰模型的比较研究[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(28):4869-4872.
- [30] 田海清,张于念,张和江,等. 免疫性卵巢早衰模型鼠制备的时间[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(32):5168-5172.
- [31] 李虹璇,李思慧,冯嘉欣,等. 卵巢早衰动物模型构建方法及比较研究进展[J]. *实验动物与比较医学*, 2021, 41(6):505-514.
- [32] 伏玉洁,孙小燕,张学红. 早发性卵巢功能不全的动物模型构建[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2021, 40(2):131-136.
- [33] 付霞霏,何援利. 化疗所致卵巢早衰动物模型的建立[J]. *广东医学*, 2008, 29(12):1952-1954.
- [34] 覃海章,肖胜军,华英杰,等. 不同方法确定动情周期及动情期生殖器官结构[J]. *安徽医科大学学报*, 2017, 52(11):1650-1653.

- [35] 李琳. 动情周期不同阶段序贯穴位埋线对肾虚型卵巢早衰小鼠E<sub>2</sub>和P的影响[D]. 大连:大连医科大学, 2011.
- [36] 徐琳,任莉,韩雪松,等. AMH、FSH、E<sub>2</sub>在卵巢早衰诊断中的价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2011, 19(3):96-98.
- [37] 韩丝银,李林华,黄景春,等. 数据挖掘的中药新方对卵巢储备功能下降大鼠干预的实验分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(23):181-189.
- [38] 阮丽明,李青,胡少飞. 抗缪勒管激素在女性生殖健康领域的预测价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2020, 28(9):1158-1161.
- [39] 张秀萍,张烁,杨晓丽. 卵巢储备功能预测指标临床价值的研究进展[J]. 中国优生优育, 2014, 20(1):39-44.
- [40] 杨琪,夏天,李爽,等. 血清抑制素B对女性生殖功能的临床诊断价值[J]. 中国妇产科临床杂志, 2016, 17(2):187-189.
- [41] JAYAPRAKASAN K, CAMPBELL B, HOPKISSON J, et al. A prospective, comparative analysis of anti-Müllerian hormone, inhibin-B, and three-dimensional ultrasound determinants of ovarian reserve in the prediction of poor response to controlled ovarian stimulation[J]. *Fertil Steril*, 2010, 93(3):855-864.
- [42] 王凯. 玛咖(MACA)对肾虚证卵巢早衰卵巢养护的作用研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2016.
- [43] 林也,张婷,李鑫,等. 肾虚证动物模型研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(1):136-139.
- [44] 李亚欢,张冬梅,王淑艳,等. 脾虚证动物模型研制概况[J]. 中医药导报, 2019, 25(1):100-102.
- [45] 宋晓丹,成秀梅,周湘,等. 寒凝血瘀证动物模型研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15):267-274.
- [46] 李磊,刘建勋,任钧国,等. 中医药动物模型研究现状及展望[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1):104-110.
- [47] 李玉波,于眉,李君玲,等. 方剂反证在构建病证结合动物模型中的作用——以逍遥散反证抑郁症肝郁脾虚证为例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(23):44-50.
- [48] 姜云耀,孙明谦,马博,等. 组学技术在现代中药药理研究中的应用与思考[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(8):1287-1295.

[责任编辑 顾雪竹]